Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Vorstand: Geheimrat Prof. Dr. M. Borst

Experimentelle Untersuchungen
über
Kolliquationsnekrose

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde in der Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Betty Mayr
München

Radeberg 1939
Buchdruckerei Edmund Weiß

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554006_0096

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München
Vorstand: Geheimrat Prof. Dr. M. Borst

Experimentelle Untersuchungen
über
Kolliquationsnekrose

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde in der Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München
vorgelegt von

Betty Mayr
München

Radeberg 1939
Buchdruckerei Edmund Weiß

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

Referent:
Geheimrat Prof. Dr. M. Borst

Tag der mündlichen Prüfung:
28. November 1938

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Meinen lieben Eltern

Experimentelle Untersuchungen über Kolliquationsnekrose

In der allgemeinen Pathologie bezeichnet man den Zelltod intra vitam mit Nekrose und erklärt beide Begriffe als identisch. Die morphologischen Veränderungen, die man zusammengefaßt als Nekroseerscheinungen betrachtet (z. B. Karyorexis, Karyolyse, Kernquellung und -schwund, Koagulation, Chromatolyse) sind Z e i ch e n für den erfolgten Zelltod. Ein absolut sicherer Zeitpunkt des erfolgten Zelltodes ist jedoch nicht anzugeben. Eine Reihe von Erscheinungen sind bekannt, von denen man weiß, daß sie die Zelle langsam dem Zelltod entgegenführen; man sagt, die Zellen, die Gewebe, sind in Nekrobiose begriffen. Sie leben zwar noch, aber alles entwickelt sich zum Tode hin. Die Folge auf eine Reihe von lebensungünstigen Einflüssen und Reaktionen sind also nekrobiotische Erscheinungen und schließlich der Tod. Nimmt schon der Morphologe irgendwie einen A b l a u f jenes Prozesses an, dessen Ende der Zelltod ist, so muß man umso mehr einen Nekrose p r o z e ß postulieren, wenn man von einem mehr biologischen Gesichtspunkt aus urteilt. Man kommt sogar dazu, deutlich zu unterscheiden zwischen den Vorgängen, die den Zelltod selbst als jenem Stadium, von dem aus Lebenserscheinungen nicht mehr bestätigt werden können, und schließlich den Vorgängen, die sich nach dem erfolgten Tode abspielen werden. Auf Grund der verschiedensten Beobachtungen ist man berechtigt anzunehmen, daß die primäre unmittelbare

Folge des Zelltodes autolytische Vorgänge sind. Sehr bald aber werden diese autolytischen Vorgänge abgelöst und überlagert durch andere, z. B. Koagulationsvorgänge. (An einem Niereninfarkt kann der Verlauf dieses Nekroseprozesses am besten verfolgt werden). Häufig sieht man aber auch, daß der Koagulation eine Verflüssigung folgt, oder von vornherein Verflüssigung auftritt. Es sei erinnert an die Verflüssigung bei der käsigen Tuberkulose, an die zentrale Verflüssigung nekrotischer Tumormassen, es sei aber auch erinnert an die Verflüssigung des nekrotischen Gewebes des Zentralnervensystems. Gerade letztere gilt schlechthin als der Typ der Kolliquationsnekrose. Man ist geneigt, eine Einteilung zu treffen in a) Koagulationsnekrosen, b) Kolliquationsnekrosen. Man muß die verschiedenen Formen der Nekrose auch von der biochemischen Seite aus betrachten, nach Zusammenhängen suchen und das etwa Trennende begründen. Es ist dies deswegen wichtig, weil man bei Betrachtung der verschiedensten Literaturangaben durchaus den Eindruck einer weitgehenden Willkür in der Begriffsbildung bekommt.

In der vorliegenden Arbeit soll vor allem die Form der Kolliquationsnekrose und zwar die des Zentralnervensystems behandelt sein. Es ergeben sich dabei eine Reihe von Fragen: Ist die Verflüssigung immer ein sekundärer Vorgang oder tritt sie primär auf? Wie ist es zu erklären, wenn die Verflüssigung sekundär erfolgt? Worin besteht die Verflüssigung? Etwa nur darin, daß die zerfallenden Teile Wasser aufnehmen und daher von erweichter Beschaffenheit werden? Warum gibt es im Zentralnervensystem im allgemeinen keine Koagulation? Fehlt es am gerinnbaren Substrat? Wie ist die Frage nach der Existenz von Koagulasen zu beantworten? Was hat die Kolliquation mit der postmortalen Autolyse gemeinsam, sind beide Vorgänge identisch, baut also das tote, ausgeschaltete Gewebe sich selbst ab (denn das heißt ja im strengen Sinn A u t o lyse) oder muß man an einen Abbau

durch Säfte oder Formelemente der gesunden Umgebung denken ?

Um diese Fragen über den Chemismus der Kolliquationsnekrose experimentell zu beantworten, folgen wir früheren Untersuchungen von Borger und Mitarbeitern, die sich mit der pathologischen Physiologie des Infarktgewebes befassen. [1]) Wir stellen spontan entstandene Erweichungsherde des Gehirngewebes normalen und künstlich im Brutschrank autolysierten Gehirnen gegenüber und untersuchen :

1. die enzymatisch-proteolytische Aktivität dieser Gewebe
2. eine Stoffbilanz, d. h. ein Verhältnis von Gesamt-N zu Eiweiß-N, Rest-N, Amino-N, Ammoniak-N und dergl.
3. die p_H-Verhältnisse, das Pufferungsvermögen.

Wir untersuchen im Rahmen dieser Arbeit im Großen und Ganzen die Veränderungen, die sich auf dem Gebiet der Eiweißkörper abspielen, die anderen, die sich an den übrigen Naturstoffen, z. B. den Lipoiden, Cerebrosiden, Phosphatiden vollziehen, bedürfen einer gesonderten Bearbeitung. Zur Beantwortung obiger Fragen werden außerdem im Tierversuch Gewebe in die Bauchhöhle implantiert und in der gleichen Weise nach den enzymatischen und stofflichen Veränderungen gesucht. Von den proteolytischen Enzymen untersuchen wir 2 Typen: Kathepsin und Peptidasen.

Das Kathepsin ist überall im tierischen Organismus anzutreffen, in fast allen Organen, in den Gewebsflüssigkeiten, im Serum, in den Leukozyten u. s. w. Es ist im Protoplasma verankert, vermag sich aber zu lösen und kann deshalb mit den verschiedensten Lösungsmitteln mehr oder minder leicht aus den Organen extrahiert und nach den üblichen Methoden der Enzymchemie von Ballaststoffen befreit und weitgehend gereinigt werden. Es spaltet nur hochmolekulares Eiweiß (z. B. Gelatine) vor allem, wenn es im isoelektrischen Zustand vorliegt, bedarf aber zur vollen Entfaltung der enzymatischen Wirksamkeit in vitro einer spezifischen Aktivierung, d. h. einer Inkubation der enzymhaltigen Extrakte mit Blausäure. Von den Peptidasen untersuchen wir die sog. Dipeptidase und die Aminopolypeptidase. Beide hydrolysieren nur Eiweißabbauprodukte und zwar Dipeptide in 2 Ami-

[1]) Hoppe-Seyler Zeitschrift für physiol. Chemie, Bd. 217, 255 (1933), Bd. 234, 245 (1935), Bd. 237, 113 (1935)

nosäuren und Polypeptide in die entsprechenden Spaltstücke. Als Substrat verwendet man in einem Fall Leucylglycin, im anderen Fall Leucylglycylglycin, ein Tripeptid also, das eine freie Aminogruppe am Molekülende trägt. Die p_H-Optima liegen im schwach Alkalischen. Bezüglich aller Einzelheiten siehe z. B. Graßmann, Ergebnisse der Enzymforschung Bd. I 1932 S. 128 und Bd. V S. 79.

Beide Enzymtypen kommen im autolytisch veränderten Gewebe vor, besser gesagt, entfalten im autolytisch veränderten Gewebe ihre Wirksamkeit. Das ist ja gerade das wesentliche der Autolyse, daß die Enzyme, die vorher in der lebenden Zelle unwirksam bezw. sinnvoll wirksam und gerichtet waren, nunmehr nach dem Tod der Zellen ungehemmt wirken und solange wirksam bleiben, als die Milieubedingungen ihren Reaktionsoptima entsprechend sind. Man wird Stadien des autolytischen Zerfalles finden, bei denen ein relatives Maximum an enzymatischer Aktivität vorhanden ist, und man findet nach mehr oder minder langer Autolysedauer ein langsames Abgleiten der Aktivität bis zu einem Minimum. Dafür sind verschiedene Faktoren verantwortlich zu machen : das Enzym wird verbraucht während der Reaktion, ursprünglich vorhandene Aktivatoren verschwinden, hemmende Abbauprodukte treten auf usw. ; hier interessiert nur das Endergebnis dieses Vorgangs und dieses ist auf alle Fälle : schließliche enzymatische Unwirksamkeit des untergehenden autolytischen Gewebes. Wie ist dies nun bei der außerhalb des Körpers im Brutschrank stattfindenden Gehirnautolyse, wie im normalen Gewebe und wie im erweichten ? Auch bei der echten Autolyse des Gehirngewebes nimmt die proteolytische Aktivität verglichen mit dem Ausgangswert immer mehr ab, bleibt in diesem verminderten Grad relativ lange erhalten, eine den ürsprünglichen Wert wesentlich überschreitende Wirksamkeit ist in den meisten Fällen nicht feststellbar. Bei der Kolliquation finden wir andere Verhältnisse. Dort ist in vielen Fällen die Wirksamkeit im Vergleich zum Normalgewebe deutlich erhöht oder mindestens gleich geblieben, und nur manchmal

sinkt auch hier die Aktivität unter die Norm. Das trifft vor allem zu für Di- und Polypeptidase, weniger für das Kathepsin. Was bedeutet das für unser Problem? Man könnte in diesem Befund der Aktivitäts s t e i g e r u n g einen Beweis erblicken für die autolytische Natur der Kolliquationsnekrose; man könnte wirklich im Sinne unserer Fragestellung das Zustandekommen der Kolliquation auf autolytische Fermente zurückführen. Allein, das ist nicht ohne weiteres angängig, da nämlich im Gegensatz zur Autolyse im Brutschrank eine Aktivitätssteigerung vorliegt, muß man eher annehmen, daß die Enzyme nicht dem eigenen Gewebe entstammen, sondern von der gesunden Umgebung herkommen, also keine A u t o l y s e vorliegt. Man wird in dieser Ansicht umso mehr bestärkt, wenn man berücksichtigt, daß es sich bei den meisten Erweichungen (selbst wenn diese als frisch diagnostiziert sind) um länger dauernde Prozesse gehandelt hat. Es mögen z. B. vom Augenblick der Embolie, dem Zeitpunkt des Beginns des Erweichungsprozesses, bis zum Tode des betreffenden Patienten mehrere Tage vergangen sein. Wäre eine Kolliquation mit einer mehrtägigen Gehirnautolyse im Brutschrank identisch, so müßte an ihr der für die Autolyse typische Befund einer Aktivitätsverminderung festgestellt werden können. Statt dessen tritt eine Erhöhung ein. Da nun also durch die Betrachtung der Enzymverhältnisse die Frage, ob Kolliquation im wesentlichen eine Autolyse sei, nicht eindeutig entschieden werden kann, stellen wir eine Stoffbilanz auf, d. h. wir untersuchen das Ergebnis der etwaigen enzymatischen Tätigkeit. Denn das sicherste Kriterium für eine Autolyse ist auf alle Fälle das Verhältnis von z. B. Gesamt-N bezw. N des hochmolekularen Eiweißes zu Rest-N oder Amino-N, oder von Lipoidphosphor zu anorganischem Phosphat und dergl. Autolyse liegt in allen Fällen dann vor, wenn die niederen Abbauprodukte im Verhältnis zu den Ausgangssubstanzen sich vermehren. Wie ist das nun bei der Kolliquationsnekrose? Man findet (siehe Tabelle IV) bezogen auf Gehirntrockensubstanz und

im Vergleich zum Normalen überraschend wenig Abbau: Der Gesamt-N ist nicht oder nur geringfügig (etwa 10 %) verringert; ebenso ist Eiweiß-N kaum verringert. Amino-N und Amoniak-N findet man verringert, ebenso lösliche Phosphate; also keine wesentliche Erhöhung des Rest-N, keine wesentliche Verminderung des Eiweiß-N und Gesamt-N, d. h. kein im wesentlichen autolytischer Prozeß. Freilich finden auch autolytische Vorgänge statt bei der Kolliquationsnekrose, wie auch bei der Koagulationsnekrose, (ist ja doch der sicherste histologische Beweis für die Nekrose das Verschwinden der Zellstruktur, d. h. die Unmöglichkeit, mit den üblichen Mitteln der histologischen Technik eine Kernfärbung zu erzielen), aber das Bild bei beiden Vorgängen wird beherrscht durch das Hinzukommen anderer Faktoren, als sie für die Autolyse typisch sind.

Es erhebt sich die Frage, weshalb die niederen Abbauprodukte nicht nur nicht erhöht, sondern sogar verringert sind. Das hat seinen Grund in der Durchdringung des toten Gewebes mit Flüssigkeit. Der Wassergehalt ist nämlich erhöht: z. B. 83 % vom Frischgewebe statt 76 % beim normalen. Es ist sicher so, daß durch diese Einwanderung von Flüssigkeit ein kontinuierlicher osmotischer Ausgleich stattfindet; was langsam löslich wird, wird durch diese Flüssigkeitsbewegung fortgeschafft. Diese Flüssigkeit ist nun nicht etwa nur Wasser oder Umsetzungsprodukt bei sich im toten Gewebe abspielenden chemischen Prozessen, sie stammt vielmehr aus der gesunden Umgebung. Das glauben wir bewiesen zu haben durch die Messung des p_H und durch die Untersuchung der Pufferungsverhältnisse. So wie bei anderen Nekrosen [1]) mißt man nämlich auch in der Gehirnnekrose ein alkalischeres p_H als beim normalen Gewebe oder gar bei der Brutschrankautolyse. Aber auch eine andersartige Pufferung liegt vor; nämlich neben den üblichen als Puffensubstanzen wirkenden Eiweißarten, Aminosäuren

[1]) Siehe auch Borger und Mitarbeiter, Hoppe-Seyler Bd. 217 S. 260 (1933), F. Koller und F. Leuthard, Klin. Wochenschr. 13, 1527 (1934)

usw. außerdem auch noch Bikarbonat/Karbonat. Das findet man nie bei Autolysegewebe und nicht beim normalen. Bikarbonatgepuffert sind aber z. B. Blut, Plasma, ferner Serum und das Serum nach Enteiweißung, seröse Flüssigkeit ist so gepuffert und sero-fibrinöse. Findet man also ein Gewebe derartig gepuffert, so liegt damit ein Beweis vor, daß solche Flüssigkeiten in einem Maße eingewandert sein müssen, daß das ihnen eigene Pufferungssystem nunmehr das überwiegende wird. Das ist der Fall bei Infarktnekrosen, bei Tbc-Nekrosen, bei nekrotischem Tumor, aber auch bei Gehirn und bei implantierten Geweben (siehe Tabellen IV und V). Diese eindringende Flüssigkeit ist auch enzymführend. Es sind keine hohen Enzymaktivitäten, aber durch den Flüssigkeitsaustausch dürfte wohl ständig neues Enzym herangeführt und Abbauprodukte weggeschafft werden. Es vollzieht sich auf diese Weise der Abbau der toten Masse langsam und stetig, aber nicht genau so wie bei einer Autolyse. In beiden Fällen, der Kolliquation und der Autolyse, handelt es sich um eine Desorganisation der Gewebe und der Zellen. Bei der Autolyse kommt es auf alle Fälle mehr oder minder schnell zu einem gewissen Stillstand, eben dann, wenn die zelleigenen Enzyme inaktiv geworden sind. Beim Abbau der Nekrose aber kommt es schließlich zur Resorption der abgebauten Substanzen, zur Cystenbildung. Bei der Autolyse im engen Sinn baut das Gewebe sich selbst ab. Bei der Nekrose ist es die normale, gesunde, nicht betroffene Umgebung, durch welche schließlich die Wegschaffung der toten Substanz geschieht. Es ist der Ausdruck Heterolyse dafür geprägt worden. An anderen Fällen erkennt man deutlich den Begriff und Sinn von Heterolyse: wenn tote Bezirke durch Leukozyten verdaut oder wenn Infarkte bindegewebig ersetzt werden, oder wenn ferner Leukozyten Exsudate verdauen, so ist das keine Autolyse, sondern das a n d e r e , die Leukozyxen oder die jungen Bindegewebszellen, besorgen den Abbau. In unserem Fall ist es die Flüssigkeit der Umgebung, welche löst und transportiert.

Freilich für das Endresultat ist es schließlich gleichgültig; schließlich liegt am ursprünglichen Ort der Nekrose eine Caverne oder eine Narbe. Aber es ist sicher für den Körper nicht gleichgültig, in welcher Weise der Abbau stattfindet. Wir möchten meinen, daß die Auflösung durch den Körper selbst doch irgendwie sinnvoll gesteuert ist, während die Autolyse, der Selbstabbau, planlos und unkontrolliert erfolgt und dadurch schädlich wirken könnte, weil das absterbende Gewebe der Regulation des Organismus nicht mehr unterliegt.[1]) Die Steuerung dieses Prozesses liegt nicht im toten Gewebe, sondern in der gesunden Nachbarschaft, die den Bedürfnissen des Gesamtorganismus gerecht werden kann. Es gilt also im lebenden Organismus auch für den Tod eine Art Gesetzmäßigkeit, nicht Willkür und Autonomie. Autonomie ist aber die Autolyse: Chemische Reaktionen, die vorher gerichtet waren, laufen irreversibel zu Ende, Energievorräte, der Zellen erschöpfen sich, usw.

Nachdem im Vorhergehenden gezeigt wurde, wie man sich den Verlauf der Kolliquationsnekrose, den Abbau der Gehirnsubstanz, vorstellen kann, soll nunmehr die Frage erörtert werden, weshalb keine Koagulation auftritt. Dafür können 3 Faktoren verantwortlich gemacht werden: die Menge des Eiweißes (denn Eiweiß ist die Substanz, die koagulieren kann), die Art des Eiweißes und die Existenz oder Nichtexistenz von koagulierenden Fermenten. Tatsächlich ist die Menge des Gesamt-N im Gehirn wesentlich geringer als in den anderen Geweben; während z. B. auf 1 gr Niere (Frischsubstanz, Kaninchen) 43 mg N kommen und in der Leber 57,5 mg, in der Milz 62,5 mg, im Muskel 67,5 mg, sind im Gehirn nur 33,0 mg enthalten. Man könnte ja auch einen Mangel an Bindegewebsfasern, Stützgewebe und dergl. in der Gehirnsubstanz dafür verantwortlich machen,

1) Wir weisen hin auf Intoxikation bei rasch verlaufenden Resorptionen, allgemeine Schädigung bei Brandwunden, schwere Schädigung nach Phosphorvergiftung, akute gelbe Leberatrophie, Überanspruchnahme bei Lösung der Pneumonie, Abscesse, Defektbildung, Rupturen und Perforationen.

daß die Gehirnnekrose weich und zerfließlich wird. Aber es liegt im Gehirngewebe immerhin die Menge des schwer- oder unlöslichen Eiweißes in derselben Größenordnung vor wie bei anderen Organen. So bleiben z. B. in einem Fall aus 1 g Gehirn-Frischgewebe nach Behandlung mit verdünnten Neutralsalzen, alkalischem Boratpuffer ($^m/_3$ $p_H = 9{,}0$) verdünnter NaOH ($^n/_{20}$) mit Bloor'scher Lösung und nach Aceton-Äther-Trocknung 0,060 g Trockengewebe, während aus der Niere 0,052 g gewonnen werden können. Zur Entscheidung der Frage, ob die Art des Gehirneiweißes oder die Tätigkeit von Koagulasen für die Kolliquation von Bedeutung sind, sei eine Reihe von Versuchen in vivo und in vitro angeführt. In vivo: Wir implantieren Gehirne in die Bauchhöhle von Versuchstieren, von der Beobachtung ausgehend, daß an dieser Stelle andere Gewebe deutliche Koagulationserscheinungen zeigen (ein Nierenreimplantat sieht wie infarciert aus). Die makroskopischen und chemischen Befunde dieser Gehirnimplantate sind aber ähnlich der echten Gehirnkolliquation. Auch hier gilt das oben Angeführte: Wasserzunahme (z. B. 85 % gegen 79 % beim normalen), Verminderung oder Gleichbleiben des Ammoniak-N und löslichen P, Alkalischwerden des Gewebes (siehe auch Tab. VII und VI). Ein implantiertes Gehirn wird genau so zerfließlich wie eine Spontanerweichung. Da nun Gehirnsubstanz im allgemeinen weder in der Schädelkapsel noch in der Bauchhöhle im Implantationsversuch das derb geronnene Aussehen der Koagulationsnekrose zeigt, muß man wohl annehmen, daß eben überhaupt kein koagulierbares Substrat vorhanden ist, auf welches eine eventuell anwesende Koagulase einwirken könnte.

Existieren denn nun eigentlich Koagulasen? Es ist zweckmäßig, sich an dieser Stelle und in diesem Zusammenhang an einen grundsätzlichen Unterschied im Begriff der Eiweiß-Koagulation zu erinnern: Die Eiweißkoagulation ist eine (meist irreversible) Denaturierung. Man muß deutlich unterscheiden, wie sie zustandekommt; es gibt eine enzymatische

Denaturierung, eine solche mit chemischen Mitteln und eine Hitzedenaturierung. Am Beispiel des Fibrinogens wird dies klar : Durch Thrombin kommt eine fädig-faserige Gerinnung zustande, durch Agenzien und durch Erhitzen eine Flockung. Oder : Milcheiweiß kann enzymatisch durch Lab geflockt werden, aber auch durch Säuren. Müßte man nicht auch bei der Koagulation von Geweben in vivo an beide Möglichkeiten denken ? Ist die Koagulation des Gewebes nur eine Flockung im physikalisch-chemischen Sinn, hervorgerufen durch Chemismen, oder ein enzymatischer Prozeß ? Fehlt umgekehrt im Fall der Kolliquation eine entsprechende Koagulase ? Kann man von einem allgemeinen Typ Koagulase sprechen, wie man von Hydrolasen, oder Dehydrasen spricht ? Der Begriff „Koagulase" ist mehr in der medizinischen als in der biochemischen Literatur anzutreffen. Vielleicht weil man bei medizinischer Betrachtungsweise mehr auf Grund des morphologischen Verhaltens Schlüsse zieht, anstatt zu wägen und zu messen und durch den Reagenzglasversuch zu beweisen. So ist man z. B. geneigt, die Koagulationsnekrose als eine Fermentwirkung auf die Tätigkeit von Koagulasen zurückzuführen. Aber man beweist nicht die Existenz derartiger Enzyme nach den Methoden der Enzymchemie. Man kann aber unmöglich eine Koagulase nur deswegen annehmen, weil Gewebe gerinnt, Protoplasma wie geronnen aussieht, weil vielleicht zwischen den „gerinnenden Zellen" fibrinöse Ausschwitzungen beobachtet werden oder Säfte zwischen den Zellen geronnen erscheinen; ja selbst wenn Gerinnungsnekrose dann aufzutreten scheint, falls fibrinogene Lymphe das absterbende Gewebe durchströmt, darf eine enzymatische Natur des Koagulationsprozesses nur dann angenommen werden, wenn ein Versuch in vitro diese Deutung zuläßt. Wenn man die Existenz einer Koagulase beweisen will, muß man wie bei jedem Enzymversuch folgendes fordern können :

1. Veränderungen an einem spezifischen Enzymsubstrat.
2. Die Möglichkeit der Gewinnung eines Enzympräparates oder -extraktes, welche solche Veränderungen auch in vitro hervorrufen.
3. Die Sicherstellung der enzymatischen Natur des Prozesses durch die Kriterien eines jeden Enzyms. Wir haben, wie wir an anderer Stelle mitteilen werden, experimentell festgestellt, daß bei der Koagulationsnekrose wirklich eine Gerinnung von Eiweiß im Sinne von Unlöslichwerden vorliegt. Es gelang bisher jedoch nicht, einen Enzymextrakt oder ein -präparat zu gewinnen, das solche Gerinnungen im Reagenzglas hervorruft. Es treten zwar Flockungen und Trübungen auf, wenn man klare Organextrakte mit verschiedenen Enzympräparaten aus Nekrosen behandelt. Diese Flockungen sind aber durchaus unspezifisch. Es gelingt nicht, eine Eiweißfraktion etwa in der Art eines Globulins oder eines Albumins oder irgendeines anderen bekannten Proteins durch Extrakte aus normalen oder nekrotischen Geweben so zu verändern, daß eine Gerinnung vorliegt — in dem Sinne etwa, wie Fibrinogen nach B o r d e t oder Plasma durch Thrombinpräparate zur Gerinnung gebracht werden kann. Man vermag wohl aus jedem normalen Organ, auch aus Gehirn, Thrombokinase darzustellen, die dann Plasma zur Gerinnung bringt; aber z. B. ein Niereninfarkt, in welchem — da ja eine Koagulationsnekrose vorliegt — erst recht Thrombokinase anzunehmen wäre, enthält überraschenderweise gar keine oder nur geringe Plasma zur Gerinnung bringende Eigenschaften. Solange also ein koagulierendes Ferment nicht nachzuweisen ist, muß die Entstehung von geronnenem Eiweiß auf andere Faktoren, etwa auf physikalisch-chemische Zustandsänderungen zurückgeführt werden. Wir weisen z. B. auf die bekannte Tatsache hin, daß klare Organextrakte nach Dialyse gegen Wasser Flockungen zeigen können, weil das kolloidchemische System durch die Entfernung der dialysierbaren Substanzen sich geändert hat. Es sei in diesem Zusammenhang daran erinnert,

daß im nekrotischen, erweichten oder koagulierten Gewebe eine Verminderung der löslichen Substanzen stattfindet. Das kann einer der Faktoren sein, welche Eiweiß bei der Koagulationsnekrose zur Gerinnung bringen.

Versuchsteil

Tabelle I

Vergleich der Kathepsinwirksamkeit im nekrotischen und normalen Gehirngewebe

Enzymlösung: Die Gehirne (Sektionsmaterial) werden mit flüssigem Stickstoff gehärtet und feinst zerrieben; 1 Gewichtsteil des zerriebenen Gewebes wird mit einer Mischung aus 3 Gew.-Teilen Glyzerin 87%ig und 1 Gew.-Teil $^{m}/_{3}$ Acetatpuffer $p_H = 5{,}0$ 24 Std. im Eisschrank extrahiert, dann zentrifugiert und der Extrakt klar filtriert.

Versuchsansatz: In einem 5 ccm-Meßkölbchen befinden sich: 1,0 ccm Enzymlösung, 0,75 ccm $^{m}/_{3}$ Puffer $p_H = 4{,}0$, 3,0 ccm Gelatinelösung (Darstellung dieser Lösung: 25 g Gelatine in 66,6 ccm $^{m}/_{3}$ Zitrat-HCl-Puffer $p_H = 4{,}0$ auf $p_H = 4{,}0$ gebracht und auf 250 ccm aufgefüllt) und zur Aktivierung 0,7 ccm HCN-Lösung (Darstellung: 2,0 ccm 12%iges KCN + 1,5 ccm 2n HCl + 0,5 ccm H_2O). Hierauf wird nach gründlichem Vermischen 1,0 ccm abpipettiert und darin nach der Methode Willstätter-Waldschmidt-Leitz die freien Carboxylgruppen durch Titration mit $^{n}/_{20}$ alkoholischer KOH bestimmt; der Versuchsansatz kommt dann für 24 Std. in den Brutschrank (40° C). Nach dieser Zeit werden abermals die Carboxylgruppen titriert. Die Differenz der beiden Werte ist ein Maß für die Spaltung der Gelatine und damit der enzymatischen Wirksamkeit des Extraktes bezw. des Gewebes. Die Zahlen der Tabelle bedeuten Verbrauch an $^{n}/_{20}$ alkoholischer Kalilauge.

Gehirn Fall Nr.	Art des Gewebes	ccm verbr. $^{n}/_{20}$ alkohol. KOH
III Alte Erweichung vorwiegend der weißen Gehirnsubstanz	normale Stelle	0,39
	erweichte Stelle	0,00
IV Frische Erweichung	normale Stelle	0,31
	erweichte Stelle	0,00
VI Frische Erweichung hauptsächl. der weißen Substanz	normale Stelle	—
	erweichte Stelle	0,00
VII Frische Erweichung	normale Stelle	0,33
	erweichte Stelle	0,57
IX Frische Erweichung	normale Stelle	0,25
	erweichte Stelle	0,00
XIII Frische anäm. Erweichung vorwiegend der weißen Gehirnsubstanz	normale Stelle	0,19
	erweichte Stelle	0,17

Tabelle II

Vergleich der Wirksamkeit von Di- u. Aminopolypeptidase in normalem und erweichtem Gehirngewebe

Enzymlösung: Darstellung wie bei Tabelle I, nur daß statt Acetatpuffer Phosphatpuffer $p_H = 7{,}0$ genommen wird.

Versuchsansatz: Im 5 ccm-Kölbchen befinden sich:
1,0 ccm Enzymlösung, 0,5 ccm $^m/_8$ Puffer $p_H = 7{,}0$ bezw. 7,8, 3,0 ccm Leucylglycin (Standardlösung entsprechend 0,6 Millimol dl-Leucylglycin) bezw. 2,0 ccm Leucylglycylglycin (Standardlösung entsprechend 0,5 Millimol dl- Leucylglycylglycin). Temp. 40° C. Titrationsproben 1,0 ccm; die Zahlen bedeuten ccm verbrauchte $^n/_{20}$ alkoholischer KOH.

Gehirn Fall Nr.	Art des Gewebes	Polypeptidase Spaltungszeit			Dipeptidase Spaltungszeit		
		1 Std	5 Std	24 Std	1 Std	5 Std	24 Std
III	normal	1,32	2,62	3,52	—	—	—
	erweicht	1,06	2,78	3,58	—	—	—
IV	normal	0,60	0,81	1,56	—	0,74	0,84
	erweicht	0,15	0,74	1,70	—	1,15	1,20
VIII Frische anäm. Erw. der mittl. Anteile d. re. Großhirnhemisphäre	normal	0,32	—	1,03	0,18	—	0,78
	erweicht	0,81	—	1,31	0,71	—	0,78
VI	normal	—	—	2,23	—	—	1,15
	erweicht	—	—	1,84	—	—	1,00
XIII	normal	0,81	1,04	1,01	0,96	1,33	1,79
	erweicht	1,02	1,07	1,33	1,06	1,18	2,03

Tabelle III

Kathepsin, Di- und Polypeptidase in Autolysegehirnen und in normalen Gehirnen.

Versuchsobjekt sind hier Kaninchengehirne, da eine sterile Entnahme von menschlichem Sektionsmaterial immer mit Schwierigkeiten verbunden ist, und außerdem auch am normalen Sektionsmaterial bereits postmortale Veränderungen den Enzymversuch stören können. Ein unmittelbarer Vergleich der Versuchsergebnisse dieser Tabelle und der Tabellen I und II (erweichte und normale menschliche Gehirne) ist nur insofern möglich, als man die große Linie der Veränderungen beobachten kann. Versuchsansätze und alles übrige wie bei Tabelle I u. II.

Gehirn Versuchsnummer	Kathepsin		Polypeptidase						Dipeptidase						Dauer der Autolyse in Stunden
	normal	Autol.	normal			Autolyse			normal			Autolyse			
	Spaltz. in Std.	Spaltz. in Std.	Spaltzeit in Std.			Spaltzeit in Std.			Spaltzeit in Std.			Spaltzeit in Std.			
	24	24	1	4	24	1	4	24	1	4	24	1	4	24	
Kanin. VIII			0,32	0,82	0,87	0,32	0,43	1,08	0,40	1,24	1,24	0,13	0,30	1,20	24
„ IX	0,24	0,25													
„ X	0,36	0,45	—	—	1,42	—	—	0,79	—	—	0,81	—	—	0,96	53
„ XI	0,12	0,99	—	—	1,19	—	—	1,25	—	—	0,84	—	—	0,60	53
„ XII	0,35	0,30	—	—	1,07	—	—	0,76	—	—	0,85	—	—	0,83	77
„ XIII	0,62	0,90	—	—	1,05	—	—	0,85	—	—	0,91	—	—	0,63	120

Tabelle IV

N-Verteilung im normalen und erweichten Gehirngewebe

Das erweichte Gewebe wird vorsichtig herausgeschabt, unter Zuhilfenahme flüssigen Stickstoffs fein und einheitlich verrieben, und nach der üblichen Methode die in der nachfolgenden Tabelle ersichtlichen Bestimmungen ausgeführt. Als Vergleich dient die der Erweichungsstelle entsprechende normale Zone der anderen Gehirnhemisphäre. N-Bestimmung nach Mikrokjeldahl. Zur Bestimmung des Gesamtprotein-N wird so verfahren, daß eine gewisse Menge z.B. 4g frischer zerriebener Gehirnsubstanz mit wenig H_2O zu einem homogenen Brei vermengt und mit einem Ueberschuß von Aceton versetzt wird. Aus der Fällung wird alles Nichteiweiß mit Chloroform und Bloor'scher Lösung entfernt, die Fällung mit Aceton und Äther behandelt und im Exsikkator getrocknet und gewogen. Alle Manipulationen quantitativ. Dies ergibt Gesamtrockenprotein. Mit der entsprechenden Menge dieses Proteins wird nach Veraschung im Mikrokjeldahl N bestimmt. Die Bestimmung des lösl. Protein-N, des unlösl. Protein-N und des Rest-N geschieht in einem Arbeitsgang folgendermaßen: 4 g des fein zerriebenen und vermischten Gewebes werden mit 30 ccm 5%iger NACl-Lösung bei 0° extrahiert, dann mit ebensoviel H_2O versetzt, sodaß die NaCl-Lösung 2,5%ig ist, dann wird scharf zentrifugiert (3500 Umdrehungen). Dies wird noch 2 mal wiederholt. Die vereinigten klaren Lösungen werden nun auf 200 ccm gebracht und über Asbest klar filtriert. Der Rückstand wird wie oben geschildert gereinigt, getrocknet und N bestimmt = unlösl. Protein-N. Mit einer entsprechenden Menge des klaren Filtrates wird ebenfalls Gesamt-N bestimmt = lösl. Gesamt-N, dann wird mit Trichloressigsäure enteiweißt, ergibt lösl. Protein-N und Rest-N. Es wird auf Trockengehirn umgerechnet. Die Trocknung des Frischgewebes erfolgt bei 95° bis zur Gewichtskonstanz. Die Zahlen der Tabelle beziehen sich auf 1 g Trockengewicht.

Versuch	Art des Gewebes	Gesamt-N	Gesamt-Protein-N	lösl. Protein-N	unlösl. Protein-N	Rest-N	Wassergehalt
Fr. anäm. Erw. im Centrum semi-ovale l. Fall XI	Normal-Gehirn	77,4 mg	69.4 mg	20,8 mg	48,0 mg	10,0 mg	1 g Frischgewebe = 0,2315 g Trocken-substanz
	Erweichtes Gehirn	75,8 mg	64,6 mg	17,8 mg	46,1 mg	8,55 mg	1 g Frischgewebe = 0,1630 g Trocken substanz
Fr. totale Erw. ds. Stirn- u. Temp.-L. Fall XII	Normal-Gehirn	92,9 mg	73,1 mg	17,5 mg	51,8 mg	11,2 mg	1 g Frischgewebe = 0,195 g Trocken substanz
	Erweichtes Gehirn	84,3 mg	66,1 mg	18,10 mg	47,1 mg	10,1 mg	1 g Frischgewebe = 0,159 g Trocken substanz

Es mußte leider Sektionsmaterial verwendet werden. Dieses hat den Nachteil, daß durch postmortale Vorgänge Fehlermöglichkeiten hereinkommen. Da aber immer Normal und Kolliquation verglichen werden, ist der Fehler in beiden Fällen einbezogen. Es wurde zwar versucht, im Tierversuch (Kaninchen) durch Unterbindung der Carotis, durch Injektion von Öl oder Hollundermarksuspension und dergl. eine Kolliquation zu erreichen. Alle diese Versuche schlugen fehl, wir erhielten zwar histologische Befunde, aber die erweichte Gehirnmenge war zu gering, als daß sie für unsere Versuche ausgereicht hätte. Das Kaninchen ist für solche Versuche schlecht geeignet, weil sehr leicht Kollateralen in Funktion treten. Katzen oder Hunde, die zu diesem Zweck günstiger wären, standen uns nicht zur Verfügung.

Tabelle V

P_H von normalem Gehirngewebe und von Kolliquationsnekrose des Gehirns.

Das Gewebe (menschliches Sektionsmaterial) wurde fein verrieben und gemischt und das p_H des Breies elektrometrisch gemessen (Chinhydron-Pt).

Fall Nr.	normal	erweicht
IV	6,58	7,04
V	6,34	6,80
VI	6,38	6,59
VII	6,45	6,44
IX	6,40	6,83
XI	6,28	6,83
XII	6,47	6,71
XIII	6,57	7,00

Die Zahlen der Tabelle können selbstverständlich keine Aussage zulassen über das p_H im lebenden Organismus. Sie stellen einen Durchschnittswert dar, da ja bekanntlich verschiedene Bestandteile der Gewebe und der Zellen verschiedene p_H-Werte haben (siehe Spek „p_H in der Zelle", Ergebnisse der Enzymforschung Bd. 6). Außerdem ist klar, daß durch postmortale Vorgänge die p_H-Werte nach der sauren Seite eine Verschiebung erfahren. Man sieht aber auf jeden Fall sehr deutliche Unterschiede zwischen normal und erweicht.

Tabelle VI

P_H von normalem, autolysiertem und implantiertem Gehirngewebe

Kaninchen wurde unmittelbar nach der Tötung das Gehirn steril entnommen, die eine Hemisphäre sofort untersucht, die andere nach Autolyse im Brutschrank. Gleichzeitig enthält die Tabelle p_H-Werte von Kaninchengehirnen, welche in die Bauchhöhle von anderen Kaninchen oder Meerschweinchen verpflanzt waren; verglichen werden diese Werte mit denen bei Brutschrank-Autolyse.

Normal	Autolyse	Implantat	Dauer der Autolyse bezw. d. Implantation
6,74	6,19	—	24 Std.
6,82	6,75	—	24 „
—	6,52	7,40	48 „
—	6,40	7,25	48 „
6,99	6,54	—	53 „
—	6,47	—	120 „

Die Zahlen zeigen, daß die Implantate wesentlich alkalischer sind als normal und Autolyse.

Tabelle VII

Gehalt an NH_3 und lösl. P in normalen, erweichten, implantierten und autolysierten Gehirnen

Verwendet werden menschliches Sektionsmaterial und Kaninchengehirne. Über die Ausführung der Implantation siehe Tab. VI. Die Kaninchengehirne werden steril entnommen und die Hälfte sofort auf NH_3 bezw. Phosphat untersucht, die andere Hälfte zur Autolyse in den Brutschrank gebracht bezw. implantiert. Nach der gewünschten Dauer der Autolyse bezw. Implantation werden gleichfalls NH_3 und P analysiert. Die Gehirne werden nach Beendigung des Versuches in flüssigem N gehärtet, fein zerrieben und gemischt. Die NH_3-Bestimmung erfolgt nach Parnas, die P-Bestimmung nach Bell-Doisy-Briggs. Die Zahlen bedeuten mg auf 1 g Frischgewebe.

Gehirn		Normal		Erweicht		Implantiert		Autolyse		Dauer der Autolyse bzw. Impl.
		NH_3	P	NH_3	P	NH_3	P	NH_3	P	
Menschl. Gehirn	Fall III	0,06		0,12						
	Fall IV	0,058	0,099	0,019	0,084					
	Fall XIII	0,020						0,110		
	Fall V	0,042	0,62	0,025	0,38					
	Fall VI	0,11	0,51	0,52	0,34					
	Fall VIII		0,57		0,42					
Kanin.-Gehirn	K I					0,011		0,210		52 Std.
	K II					0,067	0,42	0,240	1,12	48 Std.
	K III						0,62		1,45	80 Std.
	K IV		0,63						1,13	72 Std.
	K VI		0,44				0,42			72 Std.
	K VII		0,68				0,64			72 Sfd.

Zusammenfassung

Die Kolliquationsnekrose des Gehirns ist keine Selbstauflösung des Gewebes in dem Sinne, daß die zelleigenen Fermente des toten Gewebes abbauend wirken, also kein Prozeß im Sinn der postmortalen Autolyse. Sie besteht vielmehr darin, daß auf osmotischem Wege eine intensive Durchdringung des ausgeschalteten Gewebes mit Flüssigkeit aus der gesunden Umgebung stattfindet. Dieser Flüssigkeitsaustausch bewirkt eine Wegschaffung der ursprünglich im Gewebe vorhandenen löslichen Substanzen (z. B. Phosphat, Aminosäuren, Ammonsalze und dergl.). Die Wegschaffung der übrigen Gehirnsubstanzen muß so erklärt werden, daß mit ebenderselben Flüssigkeit Hydrolasen herangeschafft und aktiv werden. Es liegt im wesentlichen keine Autolyse des Gewebes vor, sondern eine Heterolyse. Der Begriff Autolyse sollte immer vorbehalten sein für den Gewebstod extra vitam.

Die Koagulation des Zentralnervengewebes bleibt aus vor allem deswegen, weil

1. im Vergleich zu anderen Gewebsarten weniger Eiweiß vorhanden ist,
2. das überhaupt vorhandene Eiweiß infolge der gegebenen Bedingungen anscheinend nicht gerinnbar ist.

Ein Mangel an koagulierenden Enzymen, also „Koagulasen", kann für die Entstehung der Kolliquationsnekrose nicht verantwortlich gemacht werden. Solange nämlich kein experimenteller Beweis für die Existenz derartiger Gewebskoagulasen erbracht ist, kann ja eine Koagulation auch auf eine rein physikalisch-chemische Zustandsänderung zurückgeführt werden ; bedingen doch bekanntlich geringste Milieuänderungen eine Eigenschaftsänderung von Eiweiß. Das einzige Enzym, das in diesem Zusammenhang als eine wirkliche Koagulase aufzufassen ist, ist das Thrombin bezw. die

Thrombokinase. Wie weit diese aber an der Entstehung von geronnenen Massen (z. B. Infarkten, tuberkulösem Käse) beteiligt sind, bedarf einer genaueren chemischen Untersuchung. Selbst bei einem Infarkt, wo nach Verschluß der Hauptgefäße der Versuch einer kollateralen Blutzufuhr gemacht wird und sicher auch eine Gerinnung des Fibrinogens durch das Thrombinsystem stattfindet, kann die Hauptmasse der geronnenen Substanzen auf physikalisch-chemische Weise entstanden sein.

Es wäre nun wichtig, zu untersuchen, aus welchem Grunde koagulierte Massen (Tbc.-Käse, nekrotische Tumormetastasen) sekundär erweichen und in Verflüssigungsnekrose übergehen. Diese Frage bedarf einer weiteren Bearbeitung.

Herrn Geheimrat Prof. Dr. M. Borst bin ich zu Dank verpflichtet, daß er mir in liebenswürdiger Weise die Mittel des Institutes bei der Durchführung der Arbeit zur Verfügung stellte, und das Referat übernimmt. Herrn Prof. Dr. Borger danke ich für die Überlassung des Themas und das Interesse, das er der Arbeit in ihrem Entstehen entgegenbrachte. Herrn Dr. Bayerle gilt mein Dank für das besondere Entgegenkommen in allen technischen und wissenschaftlichen Fragen.

Lebenslauf

Am 26. September 1912 bin ich als Tochter des damaligen Dozenten Dr. Eustach Mayr zu Mannheim geboren. Die Schule besuchte ich in Heidelberg und München, wo ich an der Städtischen Mädchenoberrealschule am 17. April 1932 das Zeugnis der Reife erhielt. Dann widmete ich mich 1 Semester dem Studium der Naturwissenschaften, hierauf dem der Medizin. Das Medizinische Staatsexamen bestand ich am 23. Juni 1938 an der Universität München. Am 14. November 1938 gedenke ich zu promovieren.

München, den 24. Oktober 1938.